



PENGARUH SUBSTITUSI LIMBAH CAIR TAHU UNTUK MENSTIMULASI PEMBENTUKAN LIPIDA PADA *Chlorella* sp.

Puspita Sari Harahap¹⁾, AB Susanto¹⁾, Dwi Susilaningsih²⁾, Delicia YR²⁾

¹⁾Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698

²⁾ Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
Jl. Raya Bogor KM. 46, Cibinong 16911, Kabupaten Bogor Indonesia Telp/Fax. 021-8754588
email: puspita.sari.harahap@gmail.com

Abstrak

Chlorella sp. adalah salah satu jenis mikroalga laut yang mempunyai kadar lipid potensial. Selain mempunyai kecepatan pertumbuhan yang tinggi, *Chlorella* sp. juga mudah untuk dibudidayakan. Dengan potensi ini *Chlorella* sp. dapat dijadikan bahan baku utama dalam pembuatan biodiesel. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi mikroalga laut *Chlorella* sp. dengan penambahan berbagai konsentrasi limbah cair tahu sebagai substrat pengganti senyawa karbon medium untuk merangsang pembentukan lipida pada alga tersebut. Metode yang dilakukan dalam penelitian adalah *eksperimental laboratoris*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2011 sampai Februari 2012. Sampel diperoleh dari koleksi mikroalga di Pusat Penelitian Bioteknologi bagian Bioproses, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong. Materi penelitian ini adalah *Chlorella* sp. yang diperoleh dari koleksi kultur Laboratorium Bioproses Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Analisis data berupa analisis varians, prosedur yang mencoba menganalisis variasi dari respon penambahan limbah cair tahu 0%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%, dan mencoba menerapkan porsi varians ini pada setiap kelompok dari variabel independent. Hasil penelitian ini menunjukkan perlakuan yang menghasilkan lipid tertinggi pada pemeliharaan *Chlorella* sp. dengan media penambahan limbah cair tahu 15% pada hari ke-42, sebesar 0,5160 gram/Liter, dan *Chlorella* sp. dengan penambahan limbah cair tahu 20% pada hari ke-45 menghasilkan lipid tinggi sebesar 0,4040 gram/Liter. Kultur *Chlorella* sp. dengan penambahan limbah cair tahu sebagai media menghasilkan lipid yang kurang optimum.

Kata Kunci: *Chlorella* sp., Kandungan Lipid, Limbah Cair Tahu

Abstract

Chlorella sp. is one of microalgae which has potential lipid content. *Chlorella* sp. has a rapid growth rate and also easy to maintain. Therefore, chlorella has potency as source in biodiesel production. This aim of study is to determine substitution of carbon source as regular medium with tofu liquid waste to enhanced lipid production of *Chlorella* sp. This research was conducted by laboratory experimental method using Completely Randomized Design (CRD) with six treatments (three replicates) and one control. Material in this research is *Chlorella* sp. that obtained from Puslit Bioteknologi- Bioproses division, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong. Research's data is analyzed using analysis variant (for the normal and homogenous data) or using non-parametric (for the abnormal and in homogenous data). The result of this study indicates treatment which has higher lipid is *Chlorella* sp.'s cultivation with tofu liquid waste addition 15 % in day 42nd (0,5160 g/ L), and treatment with tofu liquid waste addition 20 % in day 45th has the highest oil content (0,4040 g/ L). Culture of *Chlorella* sp. with tofu liquid waste as medium resulted decrease lipid production .

Key word: *Chlorella* sp., lipid content, tofu waste addition

PENDAHULUAN

Kebutuhan energi dari bahan bakar minyak bumi berbasis fosil seperti solar, bensin dan minyak tanah dari berbagai negara di dunia dalam tahun-tahun terakhir ini mengalami peningkatan tajam. Ketersediaan cadangan sumber BBM (Bahan Bakar Minyak) semakin terbatas dan harga minyak duniapun semakin melambung tinggi (Kurtubi, 2004). Selain itu, produktivitas dari sumur-sumur penghasil BBM yang ada cenderung menurun setiap tahunnya.

Perkembangan bioteknologi pada masa ini, telah banyak dilakukan penelitian untuk mengatasi keterbatasan sumber energi ini. Biodiesel adalah salah satu alternatif yang sedang dikembangkan para peneliti, praktisi dan industri, dengan menggunakan tumbuhan tingkat tinggi seperti jarak, kelapa sawit jagung dan lain-lain. Pengembangan sumber biodiesel mencapai pada organisme tingkat rendah baik yang berasal dari laut maupun terrestrial.

Salah satu makhluk hidup yang tumbuh dan berkembang di perairan laut adalah mikroalga. Mikroalga laut selain hanya membutuhkan ketersediaan air sebagai media tumbuh, ketersediaan mikroalga laut juga sangat tinggi. Tingginya keanekaragaman mikroalga tersebut memungkinkan untuk mendapatkan mikroalga potensial yang menghasilkan minyak dalam jumlah besar (Hutabarat, 2008). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa mikroalga laut dapat menjadi sumber alternatif baru sebagai penghasil bahan baku biodiesel. Sama seperti tanaman lainnya, mikroalga mampu melakukan proses fotosintesis yang mengubah energi matahari menjadi energi kimia yang disimpan dalam bentuk senyawa lipid (Bayu, 2010).

Kandungan minyak mikroalga laut cukup tinggi dibandingkan sumber bahan baku minyak lainnya. Minyak merupakan komponen penyusun lipid mikroalga. Minyak yang terkandung umumnya berkisar 20-50% berat kering. *Chlorella* sp.

merupakan salah satu mikroalga yang berpotensi menghasilkan lipid sebagai bahan dasar untuk memproduksi biodiesel. Kandungan lipid dari *Chlorella* sp. berkisar 28%-32% dari berat kering (Chisti, 2007).

Limbah cair tahu merupakan air yang tidak dapat dimanfaatkan lagi serta dapat berdampak buruk bagi kehidupan manusia dan lingkungan (Mardana, 2002). Senyawa-senyawa organik di dalam limbah cair tahu dapat berupa protein, karbohidrat, lemak, dan minyak. Senyawa-senyawa berupa protein dan karbohidrat memiliki jumlah yang paling banyak yaitu sekitar 40%-60% dan 25%-50% sedangkan lemak 10% (Sugiharto, 1987). Bahan-bahan organik ini dapat diuraikan oleh mikroorganisme menjadi makronutrien yang dibutuhkan oleh mikroorganisme.

Pertumbuhan *Chlorella* sp. sangat ditentukan oleh ketersediaan nutrient dan kondisi lingkungan (Sylvester *et al.*, 2002). Nutrient tersebut terdiri dari Makronutrien seperti C, H, N, P, S, Mg, dan Ca, dan mikronutrient seperti Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn, dan Si (Reynold, 1990). Semua nutrient ini telah ada pada media sintetik yang biasa digunakan dalam kultur *Chlorella* sp. dalam hal ini adalah media IMK. Dibandingkan dengan mikroalga lain yang juga berpotensi, kandungan lipid dari *Chlorella* sp. masih terhitung lebih rendah dari yang lain (Chisti, 2007). Menggunakan limbah cair tahu sebagai media pengganti sebagian pada kultur *Chlorella* sp. diharapkan dapat meningkatkan produksi lipid. Penambahan nutrient yang ada pada limbah cair tahu ke dalam kultur *Chlorella* sp., diharapkan mampu memperkaya kandungan karbohidrat, kemudian dengan berlebuhnya kandungan karbohidrat pada sel *Chlorella* sp., akan diubah dalam bentuk lipid.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji potensi mikroalga laut *Chlorella* sp. dengan penambahan berbagai konsentrasi limbah cair tahu sebagai pengganti senyawa karbon medium untuk merangsang pembentukan lipid pada alga tersebut.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mikroalga *Chlorella* sp. yang diperoleh dari koleksi kultur Laboratorium Bioproses Puslit Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Limbah cair tahu diambil dari industri pembuatan tahu daerah pemukiman Cibinong.

Metode yang dilakukan dalam penelitian adalah metode *eksperimental laboratoris*. *Chlorella* sp. dikultur dengan berbagai penambahan limbah cair tahu yaitu tanpa penambahan limbah cair tahu sebagai kontrol, penambahan limbah cair tahu 5%, 10%, 15%, 20% dan 25% dari volume kultur. Pengambilan sampel dilakukan 3 hari sekali selama 45 hari.

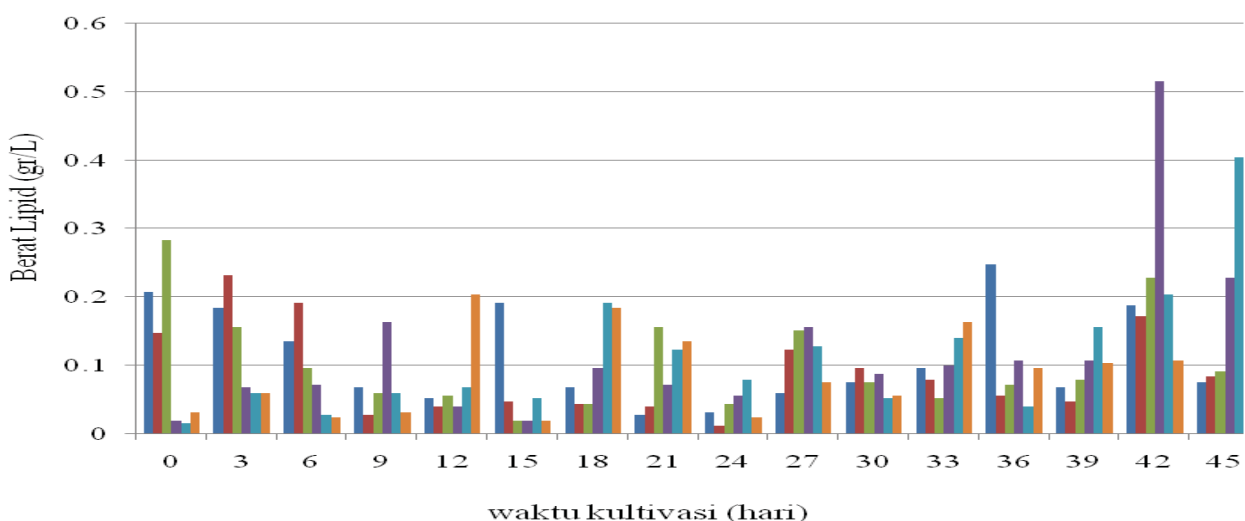
Data hasil pengamatan dibuat data dan grafik, diolah dengan bantuan program excel. Analisis varians adalah prosedur yang mencoba menganalisis variasi dari respon dan mencoba menerapkan porsi varians ini pada setiap kelompok dari variabel independent. Tujuan dari analisis ini adalah untuk menemukan variabel independent dalam penelitian dan menentukan bagaimana variabel-variabel tersebut berinteraksi dan mempengaruhi tanggapan atau perlakuan. Menentukan dari keenam variabel penambahan limbah cair tahu mana yang paling banyak

menghasilkan lipid paling banyak. Hasil yang didapat adalah variabel dihari keberapa dan pada konsentrasi limbah cair tahu keberapa yang menghasilkan lipid paling banyak.

Pelaksanaan penelitian meliputi parameter lingkungan yang meliputi pengukuran pH, suhu dan salinitas dan intensitas cahaya. Pertumbuhan mikroalga selama kultivasi dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 680 nm (Wijanarko, 2007). Analisis kadar total lipid menggunakan metode bligh and dyer dengan menggunakan metanol dan kloroform dengan perbandingan yang telah dimodifikasi yaitu metanol : kloroform : aquades = 1:1:1 (Method of Bligh and Dyer), dan pengukuran kadar gula total dengan menggunakan metode *Phenol Sulfuric Acid* (Dubois, 1956).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil kandungan lipid dari berbagai penambahan limbah cair tahu dapat dilihat pada Gambar 1. Menunjukkan kurva hasil kadar lipid dari berbagai penambahan limbah cair tahu.



Gambar 1. Kurva hasil kadar lipid *Chlorella* sp. dengan berbagai persentase penambahan limbah cair tahu.
Keterangan: ■ T1 ■ T2 ■ T3 ■ T4 ■ T5 ■ T6

Berdasar keenam variabel kultur yang diamati, kultur yang menghasilkan lipid paling tinggi adalah kultur *Chlorella* sp. dengan penambahan limbah cair tahu 15% pada pengambilan sampel hari ke-42 yaitu 0,0129 gram/ 25ml. Jika dikonversikan kedalam bentuk gram/Liter lipid yang dihasilkan adalah sebesar 0,5160 gram/Liter. Kemudian dilanjutkan dengan kultur *Chlorella* sp. dengan penambahan limbah cair tahu 20% pada pengambilan sampel hari ke-45 yaitu 0,0101 gram/25ml. Jika dikonversikan kedalam bentuk gram/Liter lipid yang dihasilkan adalah sebesar 0,4040 gram/Liter.

Lipid yang dihasilkan dari masing-masing kultur tidak terlalu optimal karena beberapa faktor parameter yang mempengaruhinya yakni besarnya intensitas cahaya, sehingga kurangnya tingkat pertumbuhan dari masing-masing perlakuan mengakibatkan hasil kadar lipid

yang sedikit (Amalia, 2012). Selain itu proses pengekstrakan lipid dilakukan dengan menggunakan sampel dari berat basah *Chlorella* sp. bukan dari berat kering sampel *Chlorella* sp. pada masing-masing kultur. Sampel alga yang masih mengandung unsur air didalamnya akan menghasilkan lipid lebih sedikit dibandingkan sampel alga berat kering saat dilakukan ekstraksi lipid. Namun jika dilakukan ekstraksi minyak dengan menggunakan berat kering dari 25 ml sampel *Chlorella* sp, berat kering yang dihasilkan terlalu kecil untuk diamati, karena berat dari berat kering *Chlorella* sp. hanya sekitar 10% dari berat basah.

Pada Tabel 1. menunjukkan kadar gula total yang terkandung dalam masing-masing perlakuan. Keenam perlakuan yang dilakukan tidak menunjukkan peningkatan yang signifikan dari hari pertama sampai hari ke-45.

Tabel 1. Kadar Gula Total pada *Chlorella* sp. dengan Berbagai Persentase Penambahan Limbah Cair Tahu.

Sampling hari ke	0% (ppm)	5% (ppm)	10% (ppm)	15% (ppm)	20% (ppm)	25% (ppm)
0	138,61	116,94	143,61	212,92	364,17	465,49
3	97,22	163,33	127,22	136,81	471,94	386,46
6	140,00	95,83	127,36	177,22	303,26	407,01
9	70,28	120,14	224,72	151,67	412,71	637,64
12	151,11	93,19	85,97	154,58	275,97	292,22
15	215,42	96,25	133,19	154,31	307,22	410,14
18	232,92	109,86	132,50	118,89	340,90	390,69
21	193,75	119,58	93,06	88,89	345,49	277,08
24	217,50	115,42	123,61	171,11	350,35	394,58
27	210,28	111,94	131,67	169,58	345,69	413,96
30	163,61	104,86	105,42	157,36	314,86	342,22
33	336,81	161,67	115,56	213,75	461,94	395,76
36	187,64	147,22	150,42	211,11	443,26	481,60
39	208,33	113,89	143,89	560,56	713,33	999,72
42	200,97	192,50	199,44	498,61	1161,94	1246,53
45	289,72	249,44	157,36	503,06	1404,58	1038,33

Hasil yang telah diperoleh, menunjukkan masing-masing perlakuan menghasilkan kadar gula yang meningkat pada 16 pengambilan sampel. Kadar gula total dari kultur dengan penambahan limbah cair tahu 15%, 20% dan 25% memiliki kadar gula yang sangat tinggi dibandingkan dengan kadar gula yang dihasilkan dari kultur tanpa penambahan limbah cair tahu dan penambahan limbah cair tahu 5% dan 10%. Kultur dengan

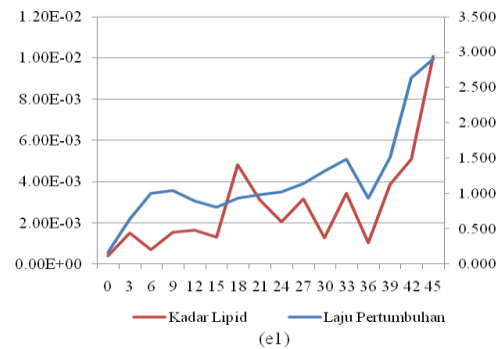
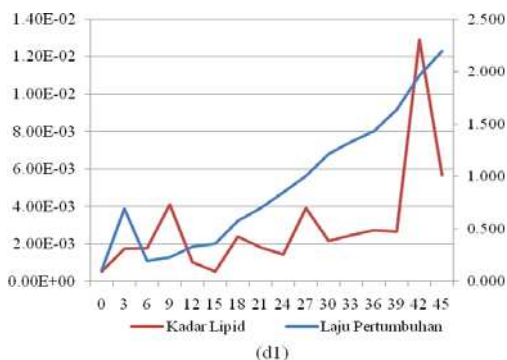
penambahan limbah cair tahu 15% memiliki kadar gula total sebesar 212,92 ppm pada awal pertumbuhan, kemudian memiliki kadar gula terendah pada hari ke-21 sebesar 88,89 ppm. Pada hari ke-39 kultur mencapai kadar gula tertinggi sebesar 560,56 ppm. Pada kultur *Chlorella* sp. dengan penambahan limbah cair tahu 20% dan 25% memiliki kadar gula total sebesar 364,17 ppm dan 465,49 ppm di awal pertumbuhannya. Mencapai kadar

gula tertinggi pada hari ke-45 sebesar 1404,58 ppm untuk kultur dengan penambahan limbah cair tahu 20% dan pada hari ke-42 sebesar 1246,53 ppm untuk kultur dengan penambahan limbah cair tahu 25%.

Gula total yang diukur berasal dari kandungan karbohidrat yang ada dalam *Chlorella* sp. maupun pada limbah cair tahu tersebut. Dari pengukuran kadar gula total dari limbah cair tahu itu sendiri juga menghasilkan kadar gula yang tinggi dari masing-masing persentase penambahan limbah cair tahu. Ini membuktikan bahwa besarnya karbohidrat pada limbah cair tahu mempengaruhi besarnya kadar gula total yang dihasilkan dari masing-masing perlakuan.

Pola pertumbuhan dari 6 perlakuan mengalami pertumbuhan yang meningkat sampai akhir pengkulturan, ini diikuti dengan kadar lipid yang fluktuatif, dan cenderung meningkat dari masing-masing perlakuan. Namun apabila jika dibandingkan dengan kadar gula total pada masing-masing perlakuan masih sangat sedikit. Diketahui bahwa kadar lipid tertinggi dihasilkan dari kultur dengan penambahan limbah cair tahu 15% dan 20%.

Pada Gambar 2. menunjukkan pengaruh laju pertumbuhan terhadap kandungan lipid total pada kultur dengan penambahan limbah cair tahu 15% dan 20%, sedangkan Gambar 3. menunjukkan pengaruh kadar gula total terhadap kandungan lipid total pada kultur dengan penambahan limbah cair tahu 15% dan 20%.



Gambar 2. Pola Data Cross: Pengaruh Laju pertumbuhan terhadap Kadar Lipid pada *Chlorella* sp. dengan Limbah cair tahu 15% (d1) dan 20% (e1).

Kultur dengan penambahan limbah cair tahu 15% (Gambar 2 d1), 20% (Gambar 3 e1) menunjukkan peningkatan pola pertumbuhan disertai peningkatan kadar lipid.

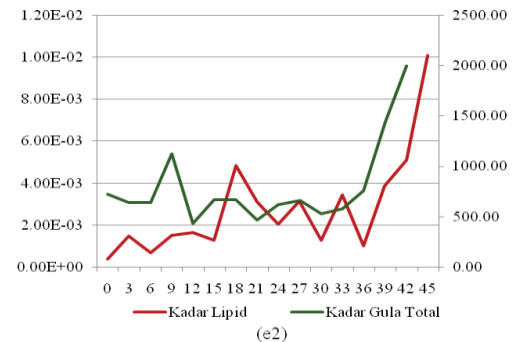
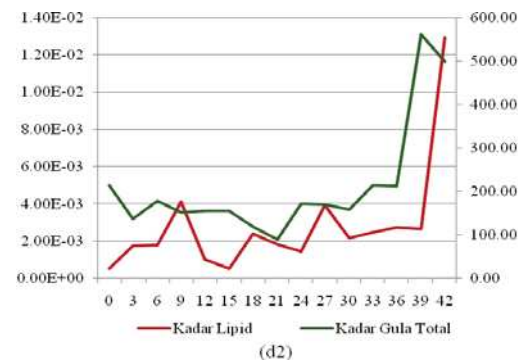
Pola pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan. Menurut Amalia (2012), penyinaran siklus gelap terang dapat meningkatkan kadar lipid pada mikroalga. Pendapat ini didukung oleh pernyataan Cohen (1999), proses metabolisme dalam sel alga terjadi secara simultan. Pembelahan sel terjadi selama periode gelap, sedangkan proses metabolisme seperti pembentukan pigmen, sintesa lipid dan asam terjadi selama periode terang. Sedangkan pada penelitian ini, sel alga dari *Chlorella* dikultur dengan lampu yang menyala selama 24 jam, hal ini diduga penyebab pembelahan sel tidak terjadi secara cepat. Kurangnya populasi mikroalga menyebabkan sintesa lipid yang terjadi pada periode terang juga sedikit. Ini diduga salah satu penyebab mengapa kadar lipid yang dihasilkan oleh *Chlorella* sedikit.

Selain perbedaan gelap terang penyinaran kultur, unsur hara yang terkandung pada media sintesis pada semua kultur juga mempengaruhi peningkatan kandungan lipid pada sel alga (Amalia, 2012). Media sintesis IMK dan limbah cair tahu mengandung kadar unsur hara yang cukup lengkap yaitu unsur K, N, Na, P, dan Ca. kandungan unsur hara S dan C pada media IMK sangat sedikit yakni S pada ZnSO_4 hanya 0,0000023 gram / Liter,

namun pada limbah cair tahu mengandung cukup banyak unsur S yaitu sebesar 77,20 mg/L. Banyaknya kandungan unsur S menyebabkan kadar lipid pada sel alga menjadi sedikit. Sedangkan penelitian yang dilakukan Amalia (2012), media yang digunakan tidak mengandung unsur S dan C (mengalami defisiensi unsur hara S dan C) sehingga kadar lipidnya meningkat. Hal ini disebabkan oleh unsur S yang merupakan komponen esensial yang digunakan untuk sintesis protein, karena sejumlah metabolit antara dalam pembentukan karbohidrat yang dihasilkan oleh asimilasi asetat lebih banyak digunakan untuk sintesis asam amino dibandingkan untuk sintesis asam lemak. Hal ini sependapat dengan Deng *et al.* (2011), media kultur yang kekurangan unsur hara S dan C dapat meningkatkan kadar lipid total.

Selain unsur hara S dan C yang mempengaruhi kadar lipid total, unsur hara N pada NaNO_3 juga ikut berpengaruh. Kandungan N pada media IMK termasuk tinggi yakni 0,2 gram / Liter, sedangkan lipid total yang dihasilkan sedikit. Menurut Widianingsih (2011), kandungan unsur N yang tinggi dapat menurunkan kadar lipid pada sel alga. Hal ini diduga karena unsur N juga merupakan komponen esensial yang digunakan untuk sintesis protein.

Ditinjau dari pola pertumbuhan yang hanya mencapai fase eksponensial, hal ini berpengaruh terhadap kadar lipid yang dihasilkan sel alga. Pada fase stasioner sel alga akan memiliki kadar lipid yang lebih besar dibanding pada fase eksponensial, karena pada fase eksponensial seluruh nutrient yang dibentuk pada sel alga masih digunakan untuk pertumbuhan. Pada fase stasioner telah terjadi penurunan pembelahan sel yang diikuti dengan penyimpanan produk dalam bentuk lipid (Widianingsih, 2011).



Gambar 3. Pola Data Cross: Pengaruh Kadar gula total terhadap kandungan lipid total pada kultur *Chlorella sp.* dengan Limbah cair tahu 15% (d2) dan 20% (e2).

Pada kultur dengan penambahan limbah cair tahu 15% dan 20% terlihat kandungan gula total semakin meningkat dari awal pertumbuhan hingga hari ke-45, namun diperlihatkan kandungan dari kadar lipid yang dihasilkan sedikit (Gambar 2 d2 dan Gambar 3 e2). Kandungan gula yang tinggi pada fase eksponensial ini menunjukkan bahwa sel alga memproduksi gula terus menerus untuk energi (nutrient) yang digunakan dalam melakukan pembelahan sel. Namun karena lambatnya pertumbuhan dari sel *Chlorella sp.* yang disebabkan tidak adanya siklus gelap pada masa pengkulturan, menghasilkan penumpukan produksi gula.

KESIMPULAN

Chlorella sp. dengan penambahan limbah cair tahu 15% pada hari ke-42 menghasilkan lipid paling tinggi sebesar 0,0129 gram/ 25ml atau 0,5160 gram/Liter, dan *Chlorella* sp. dengan penambahan limbah cair tahu 20% pada hari ke-45 menghasilkan lipid paling tinggi sebesar 0,0101 gram/ 25ml atau 0,4040 gram/Liter. Kultur *Chlorella* sp. dengan penambahan limbah cair tahu sebagai media menghasilkan lipid yang kurang optimum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada dosen pembimbing utama saya yaitu Bapak Dr. AB Susanto, M.Sc serta Ibu Dr. Dwi Susilaningsih, M.Pharm selaku dosen pembimbing anggota yang selalu memberikan saran dan masukan dalam pembuatan jurnal ilmiah ini.

Terima kasih kepada Puslit Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia yang telah memfasilitasi alat dan tempat selama penelitian, dan kepada kemendikbud yang telah memberikan beasiswa unggulan melalui program P3SWOT.

Penulis juga menyampaikan terimakasih kepada semua pihak yang membantu untuk pembuatan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, S.P.S. 2012. Pengaruh Jenis Pupuk yang Berbeda terhadap Laju Pertumbuhan Populasi dan kadar Lemak *Nannocloropsis oculata*. Surabaya: Universitas Negeri Surabaya.
- Bayu, S. 2010. Biodiesel dari Mikroalgae Laut: Potensi dan Tantangan. *Oseana*. volume 35: 15-24.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from Microalgae. *Biotechnology Advances* 0734-9750 25 294 306.
- Cohen, Z. 1999. Chemicals from Microalgae. Israel: BenGurion University of The Negev.
- Deng, X., F. Xiaowen, dan Y. Li. 2011. The Effects Nutritional Restriction on Neutral Lipid Accumulation in *Chlamydomonas* and *Chlorella*. *African Journal of Microbiology research* page: 260-270. (Online) <http://www.academicjournals.org>. Diakses pada tanggal 28 Juli 2012.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related Substance. *Anal. Chem.* 28:350-356.
- Hutabarat, S. 2008. Exploration of Indonesia's Biodiesel Producing Microalgae as Sustainable Energy Source. Research Report Alcoa Foundation's Conservation and Sustainability Fellowship Program: 6-25.
- Kurtubi. 2004. Indonesia Net Oil Importer. *Harian Pagi Kompas. Bisnis&Investasi*. Diakses tanggal 26 Desember 2011.
- Mardana, Dwi. 2002. Copyright Sinar Harapan 2002. <http://www.sinarharapan.co.id> diakses 10 Oktober 2012.
- Sugiharto. 1987. Dasar-dasar Pengolahan Air Limbah. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Sylvester B, Nelvy D, Sudjiharno. 2002. Persyaratan budidaya fitoplankton. *Budidaya Fitoplankton & Zooplankton* 10:24-36.
- Widianingsih, H. Retno, H. Endrawati, Ervia., R.I Valentina. 2011. Pengaruh Pengurangan Konsentrasi Nutrien Fosfat dan Nitrat terhadap Kandungan Lipid Total *Nannocloropsis oculata*. *Ilmu Kelautan* Vol. 13(3):167-170.